

Use of an agent for promoting adhesion of epidermal basal layer keratinocytes for prevention of, e.g. skin aging

Patent Number : WO9962481

International patents classification : A61K-007/48 A61K-035/78 A01N-065/00 A61K-007/00 A61K-007/40 A61K-031/195 A61K-031/198 A61K-031/401 A61K-031/4172 A61K-033/14 A61K-033/32 A61K-035/00

• Abstract :

WO9962481 A NOVELTY - Cosmetic treatment by applying to the skin an agent (I) that promotes the adhesion of epidermal basal layer keratinocytes at the dermal-epidermal junction, especially to the collagen IV at that junction.

DETAILED DESCRIPTION - An INDEPENDENT CLAIM is also included for a composition containing the agents.

ACTIVITY - The adherence of normal human keratinocytes to type IV collagen was tested in vitro. The weight in μg of protein adhering per unit was 3.52 for controls, whilst in the presence of 1mM magnesium chloride this rose to 4.54, and in the presence of 0.25mM of magnesium aspartate it was 5.39.

USE - (I) can be used for slowing or treatment of cutaneous aging, especially treatment of wrinkles, and to increase the tone and elasticity of the skin. (Dwg.0/0)

• Publication data :

Patent Family : WO9962481 A1 19991209 DW2000-09 A61K-007/48 Fre 29p * AP: 1999WO-FR01261 19990528 DSNW: JP US DSRW: AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE

FR2779059 A1 19991203 DW2000-09 AP: 1998FR-0006822 19980529

EP1082098 A1 20010314 DW2001-16 A61K-007/48 Fre FD:

Based on WO9962481 AP: 1999EP-0922237 19990528; 1999WO-FR01261 19990528 DSR: CH DE ES FR GB IT LI

ES2156846 T1 20010801 DW2001-49 A61K-007/48 FD: Based on EP1082098 AP: 1999EP-0922237 19990528

JP2002516838 W 20020611 DW2002-53 A61K-007/48 25p FD: Based on WO9962481 AP: 1999WO-FR01261 19990528; 2000JP-0551738 19990528

US6471972 B1 20021029 DW2002-74 A61K-007/48

FD: CIP of US6193975; Based on WO9962481 AP: 1999US-0297679 19990506; 1999WO-FR01261 19990528; 2000US-0701341 20001128

US20030059484 A1 20030327 DW2003-25 A61K-035/78 FD: Cont of US6471972 AP: 1999US-0297679 19990506; 1999WO-FR01261 19990528; 2000US-0701341 20001128; 2002US-0244741 20020917

Priority n° : 1998FR-0006822 19980529; 1996FR-0013585 19961107

Covered countries : 21

Publications count : 7

• Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (GUER-) GUERLAIN SA

(LVMH-) LVMH RECH

Inventor(s) : BONTE F; DUMAS M; HEUSELE C; LE BLAY J; BLAY JL

• Accession codes :

Accession N° : 2000-105660 [09]

Related Acc. N° : 1998-286566

Sec. Acc. n° CIP : C2000-031692

• Derwent codes :

Manual code : CPI: A12-V04C B04-A07E B04-A10 B10-B02A B14-N17 B14-R01

D08-B09A

Derwent Classes : A96 B04 B05 D21

Compound Numbers : RA00GT-K RA00GT-M R01801-K R01801-M R16061-K R16061-M

• Update codes :

Basic update code :2000-09

Equiv. update code :2000-09; 2001-16; 2001-49; 2002-53; 2002-74; 2003-25

Others :

Technology Abstract

TECHNOLOGY FOCUS

ORGANIC CHEMISTRY - Preferred

Compositions: (I) is preferably used with a material (II) that stimulates the synthesis of collagen IV or of collagen VII. Preferably (I) are salts or complexes of magnesium (especially magnesium aspartate and magnesium chloride) or zinc, or a mixture of salts or complexes of divalent metals. The material (II) that stimulates the synthesis of collagen (IV) is a type A or type B soya saponin or soya sapogenol, or an extract rich in these, preferably an extract of *Potentilla erecta* or of *Bertholletia excelsa*. The compositions may

THIS PAGE BLANK (USPTO)

also contain other active materials such as vitamins and their derivatives, extracts of *Centella asiatica*, asiatic acids, madecassic acids, extracts of *Siegesbeckia orientalis*, *Commiphora mukul* and *Eriobotrya japonica*, silicon derivatives, aliphatic alpha-keto acids, aliphatic alpha-hydroxy acids, amino acids, ceramides, glycosceramides, sphingosine derivatives, phospholipids, forskoline and its derivatives, *Coleus* and *Tephrosia* extracts, elastase inhibitors, soya peptides, collagenase inhibitors, flavonoids, *Ginkgo biloba*, *Mosla chinensis*, *Salvia officinalis*, *Cinnamomum cassia*, *Camellia sinensis* and *Theobroma cacao* extracts, anti-inflammatories, thickeners, hydrating agents, agents to improve the microcirculation, antiradical agents, and anti-seborrheics.

Keyword Index Terms [1] 99995-0-0-0-CL; 200757-0-0-0-CL; 99992-0-0-0-CL

UE4 2001-03; 2001-09; 2002-08; 2002-11; 2003-04

THIS PAGE BLANK (USPTO)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 7/48	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/62481 (43) Date de publication internationale: 9 décembre 1999 (09.12.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01261 (22) Date de dépôt international: 28 mai 1999 (28.05.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/06822 29 mai 1998 (29.05.98) FR (63) Apparentée par "continuation" (CON) ou par "continuation-in-part" (CIP) à une demande antérieure US 09/297,679 (CIP) Déposée le 6 mai 1999 (06.05.99) (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): GUERLAIN S.A. [FR/FR]; 68, avenue des Champs-Élysées, F-75008 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54, rue Tudelle, F-45100 Orléans (FR). DUMAS, Marc [FR/FR]; Appartement 61, 47 ter, avenue de la Mouillère, F-45100 Orléans (FR). HEUSELE, Catherine [FR/FR]; 20, avenue Beethoven, F-91470 Limours (FR). LE BLAY, Jacques [FR/FR]; 19 bis, rue Jules Vallain, F-28300 Leves (FR).		(74) Mandataires: PORTAL, Gérard etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75340 Paris Cedex 07 (FR). (81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
(54) Title: COSMETIC TREATMENT METHOD FOR FIGHTING AGAINST SKIN AGEING EFFECTS		
(54) Titre: PROCEDE DE TRAITEMENT COSMETIQUE POUR LUTTER CONTRE LES EFFETS DU VIEILLISSEMENT CUTANE		
(57) Abstract		
<p>The invention concerns a cosmetic treatment method for fighting against skin ageing effects and novel cosmetic compositions particular designed for implementing it. The invention is characterised in that it consists in using at least one agent promoting the adherence of basal layer keratinocytes to the dermal-epidermal junction, particularly to said junction collagen IV such as in particular a salt or a divalent metal complex, preferably magnesium aspartate or magnesium chloride optionally associated with an agent stimulating collagen IV synthesis and/or an agent stimulating collagen VII synthesis. The invention is useful for preparing cosmetic compositions with anti-wrinkle activity.</p>		
(57) Abrégé		
<p>La présente invention a pour objet un procédé de traitement cosmétique pour lutter contre les effets du vieillissement cutané ainsi que de nouvelles compositions cosmétiques particulièrement adaptées à sa mise en oeuvre. Selon l'invention, on utilise au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction tel qu'en particulier un sel ou un complexe de métal divalent, de préférence l'aspartate de magnésium ou le chlorure de magnésium éventuellement en association avec un agent stimulant la synthèse du collagène IV et/ou un agent stimulant la synthèse du collagène VII. Application: préparation de compositions cosmétiques à activité anti-rides.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

PROCÉDÉ DE TRAITEMENT COSMÉTIQUE POUR LUTTER CONTRE LES EFFETS DU VIEILLISSEMENT CUTANÉ

La présente invention a pour objet un procédé de traitement cosmétique pour lutter contre les effets du vieillissement cutané ainsi que de nouvelles compositions cosmétiques particulièrement adaptées à sa mise en oeuvre.

On sait que la jonction dermo-épidermique (JDE) est une structure complexe qui assure la cohésion et les échanges entre le derme et l'épiderme, indispensables au bon fonctionnement de la peau.

Il a été découvert, et ceci constitue le fondement de la présente invention qu'il était possible de ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier de diminuer la profondeur des rides et/ou ralentir leur apparition et/ou restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, par un procédé de traitement cosmétique répondant à un nouveau concept consistant à favoriser au moyen d'un agent cosmétiquement acceptable, l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène de type IV, encore désigné par collagène IV, constituant majeur de ladite jonction dermo-épidermique.

Ainsi, dans son aspect le plus général, la présente demande vise à couvrir un procédé de traitement cosmétique pour ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier pour diminuer la profondeur des rides et/ou pour ralentir leur apparition et/ou pour restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, caractérisé en ce que l'on applique sur la peau une quantité d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction.

Il a, par ailleurs, été montré que des résultats particulièrement remarquables sont obtenus dans le cadre de la présente invention, lorsque l'agent favorisant l'adhésion précité est appliqué en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène IV et/ou avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène VII.

Par l'expression "agent stimulant la synthèse de collagène IV ou de collagène VII", on entend dans le cadre de la présente description, tout agent susceptible de produire ou de maintenir une quantité élevée de collagène IV dans

la jonction dermo-épidermique, soit par une augmentation de la biosynthèse, soit par une inhibition des enzymes dégradant les protéines constituant ce produit.

Selon un mode de réalisation avantageux de l'invention, l'agent favorisant l'adhésion précité est un sel ou un complexe de métal divalent, en particulier un
5 sel ou un complexe de magnésium ou de zinc, ou un mélange de sels ou de complexes de métaux divalents.

Préférentiellement, le sel ou le complexe de métal divalent est un chlorure de métal divalent ou un sel ou un complexe de métal divalent avec un acide organique cosmétiquement acceptable tel qu'un acide aminé comme par
10 exemple l'acide aspartique, l'asparagine, la proline, l'acide glutamique, la méthionine, la leucine, l'histidine ou la lysine, ou un alpha-hydroxy-acide aliphatique en C₂-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide glycolique, l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide lactique ou l'acide hydroxy-2-butyrique.

Selon un mode de réalisation actuellement préféré de l'invention, ledit sel
15 ou complexe de métal divalent est l'aspartate de magnésium ou le chlorure de magnésium.

Selon une caractéristique particulière du procédé conforme à la présente invention, l'agent favorisant l'adhésion précité est appliqué sous forme d'une composition le contenant en une quantité comprise entre 0,0001 et 5 %, de
20 préférence entre 0,001 et 1 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

Tout agent stimulant la synthèse de collagène IV peut être utilisé dans le cadre du procédé conforme à la présente invention.

Selon un mode de réalisation actuellement préféré, l'agent stimulant la
25 synthèse de collagène IV est choisi parmi les soyasaponines et les soyasapogénols, de préférence de type A et de type B, et les extraits végétaux riches en de tels composés, de préférence les extraits de soja (*Glycine max*) ou de luzerne (*Medicago sativa*).

Selon un autre mode de réalisation préféré, l'agent stimulant la synthèse
30 de collagène IV est un totum de saponines de racines de *Medicago sativa*.

De même, tout agent stimulant la synthèse de collagène VII peut être utilisé dans le cadre de la présente invention.

Selon un mode de réalisation actuellement préféré, l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de *Potentilla erecta*.

Selon un autre mode de réalisation préféré, l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de *Bertholletia* en particulier de *Bertholletia excelsa*.

5 Selon un second aspect, la présente demande vise à couvrir de nouvelles compositions cosmétiques particulièrement adaptées à la mise en oeuvre du procédé décrit précédemment.

10 Ces compositions sont essentiellement caractérisées par le fait qu'elles contiennent une quantité efficace d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction, ledit agent étant choisi parmi les sels ou complexes de magnésium ou de zinc en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène IV et/ou une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène VII.

15 Dans ces compositions, les différents agents favorisant l'adhésion, stimulant la synthèse de collagène IV ou la synthèse de collagène VII sont tels que décrits précédemment dans le cadre de la description générale du procédé conforme à l'invention.

20 Les compositions de l'invention pourront comprendre en outre avantageusement au moins une substance favorisant la synthèse des constituants de la matrice extracellulaire de la peau.

Par ailleurs, les compositions selon l'invention peuvent contenir, en outre au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A (rétinol) et C et leurs dérivés tels que les esters notamment les palmitates et propionates, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A
25 acide, les extraits de *Centella asiatica*, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, les dérivés de silicium cosmétiquement acceptables tels que
30 des polysiloxanes, des silanols et des silicones, les alpha-céto-acides aliphatiques en C₃-C₁₂, en particulier l'acide pyruvique, les alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C₂-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide glycolique, l'acide malique et l'acide lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycocéramides, les dérivés de sphingosine, en

particulier les céramides de type II et III, les phospholipides, la forskoline et ses dérivés, les extraits de Coleus, les extraits de Tephrosia, les inhibiteurs d'élastase en particulier l'acide ellagique, les peptides de soja, les inhibiteurs de collagénase en particulier les peptides et les extraits végétaux tels que les extraits de racine de
5 Coptidis, les extraits de racine de Scutellaria baicalensis Georgi, les flavonoïdes tels que la wogonine, la baicaline et la baicaléine, les extraits hydro-éthanoliques de feuilles de Ginkgo biloba, de Mosla chinensis, de Salvia officinalis, de Cinnamomum cassia, les extraits cathéchiques de Camellia sinensis et les extraits aqueux de coques de fèves de Theobroma cacao, les anti-inflammatoires en
10 particulier les inhibiteurs de phospholipase A2, les apaisants en particulier les extraits de réglisse, l'acide glycyrrhétinique, le glycyrrhizinate d'ammonium, les agents hydratants en particulier les polyols, le propylène glycol, le butylène glycol, le glycérol, l'acide hyaluronique, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la
15 microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de Ginkgo biloba, l'isodon, les extraits d'Ami visnaga, la visnadine, la ruscogénine, les antiradicalaires en particulier les polyphénols tels que les OPC (Oligomères Procyanidoliques) et leurs dérivés, des extraits végétaux en particulier des extraits de Curcuma longa, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5-alpha-réductase, en
20 particulier un extrait de Pygeum africanum, et les agents stimulant la microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

Les compositions selon l'invention peuvent avantageusement contenir des substances protégeant la peau des effets nocifs du soleil telles que les filtres solaires seuls ou en combinaison, notamment les filtres UV A et les filtres UV B,
25 en particulier les oxydes de titane et les oxydes de zinc, l'oxybenzone, le Parsol MCX, le Parsol 1789 et les filtres d'origine végétale, les substances limitant les dommages causés à l'ADN, en particulier celles limitant la formation de dimères de thymine tel que l'acide ascorbique et ses dérivés et/ou le Photonyl®, et les substances contribuant à l'élimination des taches de vieillissement tels que les
30 inhibiteurs de la synthèse de mélanine ou de tyrosinase.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à l'homme de l'art à la lumière de la description explicative qui va suivre faite en référence à plusieurs exemples rapportant des essais effectués, ainsi que des exemples de formulations cosmétiques donnés simplement à titre

d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention.

Dans les exemples, tous les pourcentages sont donnés en poids sauf indication contraire.

5

EXEMPLE 1

Essai d'adhérence de kératinocytes humains normaux sur collagène de type IV à l'aide d'un agent selon l'invention favorisant l'adhésion des kératinocytes à la jonction dermo-épidermique, constitué dans cet essai par un chlorure ou un aspartate de magnésium.

10

Le présent essai a pour but de démontrer l'efficacité d'un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes à la jonction dermo-épidermique selon l'invention, de préférence constitué par un chlorure ou un aspartate de magnésium.

Dans ce cadre, on réalise cet essai de la manière suivante :

15

1. Tapissage des surfaces d'adhésion avec du collagène de type IV

Des puits de micro-plaques (Falcon) sont recouverts avec 6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de collagène humain de type IV, (de chez Sigma) stérile.

Chaque puits est ensuite incubé pendant une nuit à + 4°C avec une solution d'albumine bovine, BSA de chez Sigma à 4 mg/ml.

20

Les puits sont ensuite rincés deux fois avec un tampon phosphate, PBS (Phosphate Buffered Saline) de chez Gibco.

2. Préparation des cultures de kératinocytes humains normaux

Les cellules épidermiques sont obtenues à partir de peau chirurgicale saine provenant de la zone mammaire d'un donneur caucasien de sexe féminin âgé de 53 ans.

25

Les fragments de peau sont incubés dans de la trypsine 0,25 % p/v pendant 18 heures à + 4°C permettant la séparation derme/épiderme et l'obtention par agitation, d'une suspension de cellules épidermiques. La neutralisation de la trypsine s'effectue avec du sérum de veau foetal, SVF de chez Gibco.

30

Les cellules sontensemencées dans des flacons définissant une surface de 75 cm^2 et cultivées dans du milieu de prolifération pour kératinocytes K-SFM de chez Gibco, jusqu'à confluence où elles seront sous-cultivées.

Les cellules utilisées pour les expériences d'adhérence sur le substrat collagénique n'ont pas été sous-cultivées au-delà de la première sous-culture (dénommées P0 ou P1).

5 3. Traitement des kératinocytes avec le produit de l'invention constitué soit par du chlorure soit par de l'aspartate de magnésium.

De la trypsine (trypsine-EDTA 0,1 % - 0,02 % p/v de chez Gibco) est ajoutée aux cultures de kératinocytes, et la suspension cellulaire est placée dans du milieu E 199 de chez Gibco complétée de 2 mM de L-glutamine, 4 mg/ml de BSA et contenant 0,25 - 0,5 - 1 mM, , de chlorure de magnésium ou 0,25 mM d'aspartate de magnésium, selon l'invention.

Les kératinocytes sont alors incubés pendant 30 minutes à + 4 °C avant de procéder à l'étape d'adhérence au substrat tapissé de collagène IV.

15 4. Mesure de l'adhérence des kératinocytes au collagène de type IV

Dans chaque puits, les kératinocytes sontensemencés à la densité de 93000 cellules/cm² dans du milieu E 199 de chez Gibco contenant 2 mM de L-glutamine de chez Gibco et 4 mg/ml de BSA (Bovine Serum Albumin). Après une heure d'incubation à + 4 °C, les puits sont rincés avec du PBS, les cellules adhérentes sont ensuite lysées par de la soude 0,1 N et les protéines cellulaires sont alors quantifiées par la méthode colorimétrique et l'acide bicinchoninique (BCA de chez Sigma).

Parallèlement, un étalonnage est réalisé à l'aide de la BSA solubilisée dans de la soude 0,1 N permettant de convertir les valeurs de densité optique (DO) en microgrammes (µg) de protéines par puits.

5. Analyse statistique

L'adhérence A est exprimée en microgrammes de protéines cellulaires par puits de culture et les valeurs présentées au tableau I correspondent à une valeur moyenne obtenue à partir de 6 puits par concentration de produits, à savoir d'une part, des cellules non traitées, des cellules traitées avec une concentration de 0,25 mM de chlorure ou d'aspartate de magnésium, des cellules traitées avec une concentration de 0,5 mM de chlorure de magnésium et des cellules traitées avec une concentration de 1 mM de chlorure de magnésium.

Ces valeurs d'adhérence entre cellules traitées et non traitées ont été comparées par le test t de Student au seuil $p = 0,05$ pour juger de leur niveau de significativité.

- 5 Les résultats obtenus par l'expérience sur les kératinocytes d'un donneur de 53 ans sont répertoriés au tableau I ci-après :

TABLEAU I

	A	Ecart type	Test t de Student
Témoin	3,52	0,9	
Chlorure de magnésium (0,25 mM)	4,32	0,7	Non significatif ($p=0,12$)
Chlorure de magnésium (0,5 mM)	4,54	1,1	Non significatif ($p=0,1$)
Chlorure de magnésium (1 mM)	4,57	0,75	Significatif ($p=0,05$)
Aspartate de magnésium (0,25 mM)	5,39	0,8	Significatif ($p=0,004$)

10

Où A = Adhérence en μg de protéine par puits (moyenne)

- 15 A partir des résultats répertoriés au tableau I ci-dessus, on observe par rapport aux cultures témoins une augmentation de l'adhérence des kératinocytes au collagène de type IV en présence de chlorure de magnésium dès la concentration de 0,25 mM mais celle-ci n'est statistiquement significative qu'à partir de 1 mM.

Le taux d'augmentation de l'adhérence obtenu avec le chlorure de magnésium à la concentration de 1 mM est de +31 %.

- 20 En ce qui concerne l'aspartate de magnésium, celui-ci favorise également l'adhérence des kératinocytes mais plus fortement que ne le fait le chlorure de magnésium. En effet dès la concentration de 0,25 mM, l'augmentation de l'adhérence est hautement significative.

Le taux d'augmentation de l'adhérence obtenu avec l'aspartate de magnésium à la concentration de 0,25 mM est de +54 %.

Dans ces conditions, on constate ainsi que ces sels de magnésium, et plus particulièrement l'aspartate de magnésium, sont particulièrement intéressants car ils produisent des résultats hautement significatifs à de faibles doses, ce qui permet d'envisager un emploi à des concentrations faibles, présentant une bonne
5 sécurité d'utilisation.

Exemple 2 de l'invention

1. Composition de crème anti-rides.

	L-aspartate de magnésium.....	0,3 g
10	Extrait sec de Potentilla erecta.....	0,01 g
	Acide hyaluronique (sel de sodium).....	0,06 g
	Glycérol.....	5,15 g
	Extrait sec total de Centella asiatica.....	0,1 g
	Solution de palmitate de vitamine A (à 1 Million UI/g).....	0,1 g
15	Acétate de vitamine E.....	0,5 g
	Extrait sec de Perilla.....	0,5 g
	Excipient émulsionné H/E plus parfum et conservateurs.....	qsp 100g

2. Essai de cette composition cosmétique pour évaluer son efficacité anti-rides.

A- Principe

Afin d'évaluer l'efficacité anti-rides de ce produit cosmétique au niveau de "la patte d'oie" des répliques négatives de peau sont effectuées au temps 0, puis après 28 jours d'application bi-quotidienne de la composition ci-dessus, sous
25 forme d'une crème.

Ces répliques, éclairées par une lumière rasante générant des ombres portées derrière chaque ride, sont analysées à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images dénommé "Quantirides" disponible dans le commerce et mis au point par la société MONADERM (Monaco).

30

B- Appareillage

B.1- Pour la prise d'empreintes

On utilise des couronnes adhésives de chez 3M, diamètre interne : 24 mm, diamètre externe : 40 mm.

On utilise pour la prise d'empreintes du produit Silflo® de chez FLEXICO UK à base d'un polymère de silicone combiné à un catalyseur.

B.2- Pour l'analyse des empreintes

- 5 On utilise une caméra type COHU 4910-RS 170 et CCIR Monochrome CCD caméra haute définition et à très faibles bruits munie d'un objectif à focal fixe et d'un zoom manuel Lens 18 X 108 mm F 2,5 ;
- une carte d'acquisition image haute résolution en temps réel,
 - une lampe éclairage rasant Monaspot à 35° d'incidence,
 - 10 - un statif Kaiser RS 1, un plateau noir mate anti-reflet 450 X 500 mm et colonne de 1.000 mm graduée en centimètres réglable en hauteur munie d'un bras de reproduction RA1,
 - un support spécifique pour poser et orienter les répliques,
 - le logiciel Quantirides précité,
 - 15 - un micro-ordinateur et une imprimante.

C- Protocole

1. Sujets volontaires

- 30 sujets âgés de 34 à 59 ans ont été sélectionnés et répartis de la façon
20 suivante : 29 femmes et 1 homme.

2. Produit testé

- Le produit testé est la composition sous forme de crème décrite ci-dessus
au paragraphe 1.
25

3. Application

- La composition cosmétique est appliquée deux fois par jour, matin et soir, sur toute une zone temporale du visage (patte d'oie) pendant 28 jours. La quantité appliquée correspond aux habitudes d'utilisation et peut être estimée à
30 environ 1,5 à 2 mg par cm². L'autre zone temporale "non traitée" sert de témoin.

Durant les trois jours précédant le début du test et pendant toute sa durée, aucun autre produit cosmétique n'est utilisé sur la zone traitée et la zone témoin.

4. Conditions expérimentales

Température : de 20 à 22°C

Hygrométrie : de 40 à 50 % HR

- Une empreinte des zones témoins est traitée et réalisée au temps 0 et
- 5 après 28 jours de traitement. On positionne sur la zone d'étude une couronne adhésive. Une fine couche de Silflo® mélangée extemporanément à quelques gouttes de catalyseur (3 gouttes pour 3 g de Silflo®) est appliquée à l'intérieur de la zone délimitée par la rondelle. La pâte doit être soigneusement étalée afin d'éviter le formation de bulles d'air. Après polymérisation de la pâte, 4 minutes 30 de
- 10 séchage, la rondelle est décollée de la peau, entraînant avec elle la réplique. A la fin de l'étude, ces empreintes sont analysées à l'aide du logiciel Quantirides.

D. Paramètres étudiés

- Pour chaque sujet et pour chaque côté du visage, à J0 (la veille de la
- 15 première application et J28 (28^{ème} jour d'application), le traitement des empreintes par l'analyseur d'images a permis de calculer les paramètres suivants, représentatifs de l'état de ridulation de la peau :

- a) la surface totale des rides en mm²,
- b) le nombre de rides,
- 20 c) la longueur totale de rides en mm,
- d) la longueur moyenne en mm,
- e) la profondeur moyenne en µm,

E. Exploitation des résultats : évolution du côté traité et du côté témoin

1. Calcul

Variation moyenne des paramètres

On calcule pour chaque site et chaque paramètres :

$$\text{Variation.(\%)} = \left(\frac{m(t) - m(0)}{m(0)} \right) \times 100$$

- Avec :
- 30 m (t) = valeur moyenne du paramètre étudié au temps t
- m (0) = valeur moyenne du paramètre étudié au temps 0

2. Significativité statistique

Test de Wilcoxon

On utilise le test non paramétrique de Wilcoxon permettant de tenir compte du petit nombre de sujets et applicable à l'étude des paramètres biologiques in-vivo sur l'homme.

On effectue une comparaison des séries appariées de la façon suivante : on forme pour chaque paire la différence puis on classe les différences par valeur absolue croissante en mentionnant par ailleurs pour chacune si elle positive ou négative, les différences nulles sont éliminées.

10 Les quantités à considérer sont :

M = somme des rangs de différence de signe moins

P = somme des rangs de différence de signe plus

T = le plus petit des deux totaux M ou P

15 La limite de significativité admise pour $n < 10$ personnes est inférieure à 10 %.

La limite de significativité admise pour $n \geq 10$ personnes est inférieure à 5 %.

20 Le test de Wilcoxon a été effectué sur la différence $(m(t) - m(0))$ aux différents temps sur les deux sites pour comparer l'évolution du site traité par rapport au site témoin.

Un test de Wilcoxon a été effectué sur les valeurs brutes au temps 0 ($m(0)$) pour comparer l'évolution de chaque site dans le temps.

3. Résultats

25 Les résultats obtenus par l'expérience sont répertoriés dans le tableau II ci-après.

Les sites témoins et traités sont comparables au temps 0.

30 Les valeurs portées en colonne 4 sous le titre "variation totale" correspondent à la différence entre la variation chez les sujets traités et la variation chez les sujets témoins.

TABLEAU II

	Variation témoin %	Variation traité %	Variation totale %	Statistiques (Wilcoxon)
Surface totale des rides (mm²)	6,6	- 19,7	- 26,3	Significatif (p = 0,015)
Nombre de rides	16,5	- 14,3	- 30,8	Significatif (p = 0,004)
Longueur totale (mm)	12,9	- 16,7	- 29,6	Significatif (p = 0,0014)
Longueur moyenne (mm)	- 2,6	- 1,7	0,9	Non significatif
Profondeur moyenne (µm)	0,3	- 2,0	- 2,3	Non significatif

E. Conclusion

- 5 Après application bi-quotidienne pendant 28 jours de la composition selon l'invention en comparant l'évolution de la patte d'oie traitée par rapport à la patte d'oie témoin, on constate une diminution significative des rides et des ridules et le ralentissement de leur formation : la surface totale des rides diminue de 26 %, leur nombre de 31 % et la longueur totale de 30 %.

10 Exemple 3 de l'invention : crème anti-rides de nuit E/H.

Aspartate de magnésium	0,3	g
Extrait sec de Potentilla erecta	1	g
Glycérol	5	g
Propylèneglycol	2	g
Céramide III	0,04	g
Filtres UV	9	g
Méthyl silanol mannuronate	0,05	g
Extrait sec de Perilla frutescens	1	g
Extrait sec de Centella asiatica	0,5	g
Peptide de soja	1	g
Palmitate de rétinol	0,2	g
Excipient émulsionné E/H	qsp. 100	g

Exemple 4 de l'invention : crème anti-relachement, ralentit et combat l'apparition des rides.

Aspartate de magnésium 0,2	g
Glycérol 5	g
Propylèneglycol 2	g
Céramide II 0,04	g
Parsol MCX 5	g
Oxybenzone 3	g
Méthyl silanol mannuronate 0,05	g
Madécassoside 0,5	g
Rétinol 4000	UI
Saponines de Medicago sativa 0,02	g
Palmitate de rétinol 0,04	g
Excipient émulsion H/E qsp. 100	g

Exemple 5 de l'invention : gel tenseur anti-rides.

Gluconate de zinc 0,3	g
Extrait sec de Bertholletia excelsa 0,3	g
Soyasaponine de soja 0,05	g
Palmitate de rétinol 0,06	g
Acétate d'alpha-tocophérol 0,1	g
Acide lactique 1,5	g
Acide glycolique 0,2	g
Ethanol 5	g
Excipient gel qsp 100	g

REVENDEICATIONS

1. Procédé de traitement cosmétique pour ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier pour diminuer la profondeur des rides et/ou pour ralentir leur apparition et/ou pour restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, caractérisé en ce que l'on applique sur la peau une quantité d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'agent favorisant l'adhésion précité est appliqué en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène IV.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'agent favorisant l'adhésion précité est appliqué en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène VII.
4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'agent favorisant l'adhésion précité est un sel ou un complexe de métal divalent, en particulier un sel ou un complexe de magnésium ou de zinc, ou un mélange de sels ou de complexes de métaux divalents.
5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que le sel ou le complexe de métal divalent est un chlorure de métal divalent ou un sel ou un complexe de métal divalent avec un acide organique cosmétiquement acceptable tel qu'un acide aminé comme par exemple l'acide aspartique, l'asparagine, la proline, l'acide glutamique, la méthionine, la leucine, l'histidine ou la lysine, ou un alpha-hydroxy-acide aliphatique en C₂-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide glycolique, l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide lactique ou l'acide hydroxy-2-butyrique.
6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que ledit sel ou complexe de métal divalent est l'aspartate de magnésium ou le chlorure de magnésium.
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que l'agent favorisant l'adhésion précité est appliqué sous forme d'une composition le contenant en une quantité comprise entre 0,0001 et 5 %, de préférence entre 0,001 et 1 % en poids, par rapport au poids total de la composition.

8. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène IV est choisi parmi les soyaaponines et les soyaapogénols, de préférence de type A et de type B, et les extraits végétaux riches en de tels composés, de préférence les extraits de soja (*Glycine max*) ou de luzerne (5 *Medicago sativa*).

9. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène IV est un totum de saponines de racines de *Medicago sativa*.

10. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de *Potentilla erecta*.

11. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de *Bertholletia* en particulier de *Bertholletia excelsa*.

12. Composition cosmétique pour ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier pour diminuer la profondeur des rides et/ou pour ralentir leur apparition et/ou pour restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction, choisi parmi les sels ou complexes de magnésium 20 ou de zinc en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène IV.

13. Composition cosmétique pour ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier pour diminuer la profondeur des rides et/ou pour ralentir leur apparition et/ou pour restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction, choisi parmi les sels ou complexes de magnésium 25 ou de zinc en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène VII. 30

14. Composition cosmétique pour ralentir ou traiter le vieillissement cutané, en particulier pour diminuer la profondeur des rides et/ou pour ralentir leur apparition et/ou pour restaurer la tonicité et l'élasticité de la peau et/ou ralentir la

diminution de tonicité et d'élasticité de la peau, caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace d'au moins un agent favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique, notamment au collagène IV de ladite jonction, choisi parmi les sels ou complexes de magnésium ou de zinc en association avec une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène IV et une quantité efficace d'au moins un agent stimulant la synthèse de collagène VII.

15 15. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 à 14, caractérisée en ce que le sel ou le complexe de magnésium ou de zinc est un chlorure desdits métaux ou un sel ou un complexe de ceux-ci avec un acide organique cosmétiquement acceptable tel qu'un acide aminé comme par exemple l'acide aspartique, l'asparagine, la proline, l'acide glutamique, la méthionine, la leucine, l'histidine ou la lysine, ou un alpha-hydroxy-acide aliphatique en C₂-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide glycolique, l'acide gluconique, l'acide malique, l'acide lactique ou l'acide hydroxy-2-butyrique.

16. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 à 15, caractérisée en ce que ledit sel ou complexe est l'aspartate de magnésium ou le chlorure de magnésium.

20 17. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 à 16, caractérisée en ce que la quantité efficace de sel ou de complexe de magnésium ou de zinc est comprise entre 0,0001 et 5 %, de préférence entre 0,001 et 1 % en poids par rapport au poids total de la composition.

25 18. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 ou 14 à 17, caractérisée en ce l'agent stimulant la synthèse de collagène IV est choisi parmi les soyasaponines et les soyasapogénols, de préférence de type A et de type B, les extraits végétaux riches en de tels composés, de préférence les extraits de soja (Glycine max) ou de luzerne (Medicago sativa), et un totum de saponines de racines de Medicago sativa.

30 19. Composition cosmétique selon l'une des revendications 13 à 17, caractérisée en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de Potentilla erecta.

20. Composition cosmétique selon l'une des revendications 13 à 17, caractérisée en ce que l'agent stimulant la synthèse de collagène VII est un extrait de Bertholletia en particulier de Bertholletia excelsa.

21. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 à 20, caractérisée en ce qu'elle contient en outre au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A (rétinol) et C et leurs dérivés tels que les esters notamment les palmitates et propionates, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de *Centella asiatica*, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, les dérivés de silicium cosmétiquement acceptables tels que des polysiloxanes, des silanols et des silicones, les alpha-céto-acides aliphatiques en C₃-C₁₂, en particulier l'acide pyruvique, les alpha-hydroxy-acides aliphatiques en C₂-C₁₂, en particulier l'acide citrique, l'acide glycolique, l'acide malique et l'acide lactique, les acides aminés, en particulier l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycoscéramides, les dérivés de sphingosine, en particulier les céramides de type II et III, les phospholipides, la forskoline et ses dérivés, les extraits de *Coleus*, les extraits de *Tephrosia*, les inhibiteurs d'élastase en particulier l'acide ellagique, les peptides de soja, les inhibiteurs de collagénase en particulier les peptides et les extraits végétaux tels que les extraits de racine de *Coptidis*, les extraits de racine de *Scutellaria baicalensis* Georgi, les flavonoïdes tels que la wogonine, la baicaline et la baicaléine, les extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Ginkgo biloba*, de *Mosla chinensis*, de *Salvia officinalis*, de *Cinnamomum cassia*, les extraits cathéchiques de *Camellia sinensis* et les extraits aqueux de coques de fèves de *Theobroma cacao*, les anti-inflammatoires en particulier les inhibiteurs de phospholipase A2, les apaisants en particulier les extraits de réglisse, l'acide glycyrrhétinique, le glycyrrhizinate d'ammonium, les agents hydratants en particulier les polyols, le propylène glycol, le butylène glycol, le glycérol, l'acide hyaluronique, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de *Ginkgo biloba*, l'isodon, les extraits d'*Ami visnaga*, la visnadine, la ruscogénine, les antiradicalaires en particulier les polyphénols tels que les OPC (Oligomères Procyanidoliques) et leurs dérivés, des extraits végétaux en particulier des extraits de *Curcuma longa*, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5-alpha-réductase, en particulier un extrait

de *Pygeum africanum*, et les agents stimulant la microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle.

22. Composition cosmétique selon l'une des revendications 12 à 21, caractérisée en ce qu'elle contient en outre au moins une substance choisie parmi
- 5 les substances protégeant la peau des effets nocifs du soleil telles que les filtres solaires seuls ou en combinaison, notamment les filtres UV A et les filtres UV B, en particulier les oxydes de titane et les oxydes de zinc, l'oxybenzone, le Parsol MCX, le Parsol 1789 et les filtres d'origine végétale, les substances limitant les
- 10 dommages causés à l'ADN, en particulier celles limitant la formation de dimères de thymine tel que l'acide ascorbique et ses dérivés et/ou le Photonyl[®], et les substances contribuant à l'élimination des taches de vieillissement tels que les inhibiteurs de la synthèse de mélanine ou de tyrosinase

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/01261

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 19664 A (LVMH RECHERCHE) 14 May 1998 (1998-05-14) claims 1-24; examples 7,10 ---	1-4, 10, 12-14, 19
X	US 4 938 969 A (M. SCHINITSKY ET AL.) 3 July 1990 (1990-07-03) the whole document ---	1-7, 12-17
X	WO 94 22421 A (WOGEPHARM GMBH) 13 October 1994 (1994-10-13) claim 1; example 4 ---	1, 12
X	FR 2 713 483 A (LABORATOIRE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE YVES ROCHER) 16 June 1995 (1995-06-16) the whole document ---	1, 12
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 August 1999

Date of mailing of the international search report

10/08/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Glikman, J-F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. l. Application No

PCT/FR 99/01261

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 09963 A (Z. OBAGI ET AL.) 20 March 1997 (1997-03-20) the whole document ---	12
X	FR 2 406 438 A (L. MESSAC) 18 May 1979 (1979-05-18) the whole document ---	12
X	FR 2 704 390 A (BOIRON S.A.) 4 November 1994 (1994-11-04) the whole document ---	12
P,X	US 5 804 168 A (H. MURAD) 8 September 1998 (1998-09-08) example 6 ---	1,12
A	FR 2 735 981 A (LVMH RECHERCHE) 3 January 1997 (1997-01-03) claims 1,6,10,12 ---	1
A	FR 2 669 225 A (LVMH RECHERCHE) 22 May 1992 (1992-05-22) -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 99/01261

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-22 (partially)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplementary sheet INFORMATION FOLLOW-UP

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-22 (partially)

Claims 1 to 22 concern an agent which is described as "promoting the adherence of the keratinocytes of the basal layer to the dermal-epidermal junction". Said agent is defined in terms of the expected result, contrary to the requirements of clarity as defined by PCT Article 6. It has therefore not been possible to carry out an exhaustive search. Consequently the search was carried on the basis of the compounds cited in the examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is warned that the guideline adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with a preliminary examination of a subject matter unless a search has been carried out thereon. This position will remain unchanged, notwithstanding that the claims have or have not been modified, either after receiving the search report, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01261

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9819664 A	14-05-1998	FR 2755367 A	07-05-1998
US 4938969 A	03-07-1990	DK 533667 T	13-11-1995
		EP 0533667 A	31-03-1993
		WO 9118614 A	12-12-1991
WO 9422421 A	13-10-1994	AU 6504094 A	24-10-1994
		EP 0692959 A	24-01-1996
		US 5679359 A	21-10-1997
FR 2713483 A	16-06-1995	NONE	
WO 9709963 A	20-03-1997	US 5827884 A	27-10-1998
		AU 6861396 A	01-04-1998
FR 2406438 A	18-05-1979	NONE	
FR 2704390 A	04-11-1994	NONE	
US 5804168 A	08-09-1998	NONE	
FR 2735981 A	03-01-1997	WO 9701345 A	16-01-1997
FR 2669225 A	22-05-1992	DE 69108256 D	20-04-1995
		DE 69108256 T	02-11-1995
		DE 558509 T	03-02-1994
		EP 0558509 A	08-09-1993
		ES 2059297 T	16-11-1994
		WO 9209262 A	11-06-1992
		JP 6502163 T	10-03-1994
		US 5723149 A	03-03-1998
		US 5770223 A	23-06-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. Je Internationale No

PCT/FR 99/01261

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 98 19664 A (LVMH RECHERCHE) 14 mai 1998 (1998-05-14) revendications 1-24; exemples 7,10 ---	1-4,10, 12-14,19
X	US 4 938 969 A (M. SCHINITSKY ET AL.) 3 juillet 1990 (1990-07-03) le document en entier ---	1-7, 12-17
X	WO 94 22421 A (WOGEPHARM GMBH) 13 octobre 1994 (1994-10-13) revendication 1; exemple 4 ---	1,12
X	FR 2 713 483 A (LABORATOIRE DE BIOLOGIE VÉGÉTALE YVES ROCHER) 16 juin 1995 (1995-06-16) le document en entier ---	1,12
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 août 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

10/08/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Glikman, J-F

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dei. .de Internationale No

PCT/FR 99/01261

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités. avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 97 09963 A (Z. OBAGI ET AL.) 20 mars 1997 (1997-03-20) le document en entier ---	12
X	FR 2 406 438 A (L. MESSAC) 18 mai 1979 (1979-05-18) le document en entier ---	12
X	FR 2 704 390 A (BOIRON S.A.) 4 novembre 1994 (1994-11-04) le document en entier ---	12
P,X	US 5 804 168 A (H. MURAD) 8 septembre 1998 (1998-09-08) exemple 6 ---	1,12
A	FR 2 735 981 A (LVMH RECHERCHE) 3 janvier 1997 (1997-01-03) revendications 1,6,10,12 ---	1
A	FR 2 669 225 A (LVMH RECHERCHE) 22 mai 1992 (1992-05-22) -----	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR 99/ 01261

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:

2. ☒ Les revendications n^{os} 1-22 (en partie) se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
Voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210

3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}

4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications: elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99 01261

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 1-22 (en partie)

Les revendications 1 à 22 font référence à un agent dit "favorisant l'adhésion des kératinocytes de la couche basale épidermique à la jonction dermo-épidermique". Ce dit agent est défini en fonction du résultat attendu, en contradiction avec les exigences de clarté de l'art. 6 PCT. Une recherche totale était donc impossible. La recherche s'est donc effectuée sur la base des composés cités dans les exemples.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Den Je Internationale No

PCT/FR 99/01261

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9819664 A	14-05-1998	FR 2755367 A	07-05-1998
US 4938969 A	03-07-1990	DK 533667 T	13-11-1995
		EP 0533667 A	31-03-1993
		WO 9118614 A	12-12-1991
WO 9422421 A	13-10-1994	AU 6504094 A	24-10-1994
		EP 0692959 A	24-01-1996
		US 5679359 A	21-10-1997
FR 2713483 A	16-06-1995	AUCUN	
WO 9709963 A	20-03-1997	US 5827884 A	27-10-1998
		AU 6861396 A	01-04-1998
FR 2406438 A	18-05-1979	AUCUN	
FR 2704390 A	04-11-1994	AUCUN	
US 5804168 A	08-09-1998	AUCUN	
FR 2735981 A	03-01-1997	WO 9701345 A	16-01-1997
FR 2669225 A	22-05-1992	DE 69108256 D	20-04-1995
		DE 69108256 T	02-11-1995
		DE 558509 T	03-02-1994
		EP 0558509 A	08-09-1993
		ES 2059297 T	16-11-1994
		WO 9209262 A	11-06-1992
		JP 6502163 T	10-03-1994
		US 5723149 A	03-03-1998
		US 5770223 A	23-06-1998